

Zur Kenntniss der Geißeln und der Chemotaxis
von Chlamydomonas eugametos Moewus
(Chl. Moewusii Gerloff)

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität

zu München

vorgelegt

von

Malvine Hagen, geb. Seyfferth

aus

Dinkelsbühl

Dezember 1958

Berichterstatter:

1. Prof. Dr. O. RENNER

2. Prof. Dr. L. BRAUNER

Tag der mündlichen Prüfung: 25. Februar 1959

Sonderdruck aus

Planta, Bd. 53, Heft 4, S. 376—401 (1959)

Springer-Verlag OHG, Berlin · Göttingen · Heidelberg

Aus dem Botanischen Institut der Universität München

ZUR KENNTNIS DER GEISSELN UND DER CHEMOTAXIS
VON CHLAMYDOMONAS EUGAMETOS MOEWUS
(CHL. MOEWUSII GERLOFF)*

Von

MALVINE HAGEN-SEYFFERTH

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 27. Februar 1959)



* Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität München.

Die Arbeit von F. MOEWUS „Über die Chemotaxis von Algengameten“ (1939) enthält, bei einer wenig zweckmäßigen Versuchsanordnung, so viele unwahrscheinliche Angaben, daß Herr Prof. Renner nach ihrem Erscheinen seinen damaligen Assistenten Helmut Döring veranlaßte, einige dieser Befunde nachzuprüfen. Da Dr. Döring in Rußland fiel, ohne mehr als einige Vorversuche gemacht zu haben, stellte Herr Prof. Renner später mir die gleiche Aufgabe (1951). Die meisten Versuche wurden, mit langen Unterbrechungen, in München-Nymphenburg ausgeführt, ein Teil der Experimente nach meiner Verheiratung im Heiligenberg-Institut (Heiligenberg/Baden).

Herrn Prof. RENNER danke ich für die Leitung der Arbeit, Herrn Prof. LANGENDORFF für einen Arbeitsplatz in Heiligenberg.

Das Material

MOEWUS hat seine Chemotaxisversuche mit *Chlamydomonas eugametos* f. *simplex* MOEWUS ausgeführt. Unser Ausgangsmaterial waren eine männliche und eine weibliche Agarkultur von *Chl. eugametos*, die Herr Prof. RENNER vom Max Planck-Institut für Medizinische Forschung in Heidelberg im Frühjahr 1951 erhielt. Die beiden Klone entsprechen insofern der f. *simplex* MOEWUS, als auf Agar gewachsene Zellen in destilliertem Wasser ohne Nährsalzzufuhr beweglich werden, der f. *typica* darin, daß schon die kleinsten Geißelstümpfe lebhaft beweglich sind. Alle Schwärmer besitzen am Scheitel eine stumpfe Papille. Streng genommen müßte deswegen die von uns verwendete Form *Chl. Moewusii* GERLOFF heißen (vgl. CZURDA 1935, S. 141; GERLOFF 1940, S. 463). — Der von LEWIN als *Chl. Moewusii* GERLOFF verwendete Stamm wurde in Amerika isoliert und bestimmt.

Die Dimensionen des Zellkörpers erscheinen recht variabel, wenn man die Werte von Kulturen verschiedenen Alters zusammenwirft. MOEWUS hat wohl an ausgewählten Stadien gemessen.

Maße von *Chlamydomonas Moewusii*

	Länge		Breite	
MOEWUS (1931):	12	—16 μ	8	—10 μ
CZURDA (1935):	7	—15 μ	4	— 8 μ
GERLOFF (1940):	9	—15 μ	5,4	— 7,5 μ
Eigene Messungen:	8,5	—14,5 μ	4,0	— 9,5 μ
im Mittel ($n=30$)	11,1 $\pm$	0,30 μ	6,80 $\pm$	0,27 μ

Die Kultur

Als Nährboden diene 2%iger Agar (VON PRINGSHEIM u. MAINX 1926, S. 596 empfohlen) mit 0,1%iger Knopflösung. Die Kulturen wurden bei Zimmertemperatur an einem Nordfenster aufgestellt. In den Wintermonaten erhielten sie täglich für 8 Std Licht einer weißen Neonröhre (Philips TL 40 W, Warmton, etwa 6000 Lux).

Alle von diesen Agarkulturen hergestellten Zellsuspensionen, in Knopflösung wie in destilliertem Wasser, erwiesen sich als mit dem anderen Geschlecht kopulierende Gameten.

Als flüssiges Medium wurden destilliertes Wasser, 0,05%ige Knopflösung und Erdauszug verwendet. Nach PRINGSHEIM (1951) wird eine Erdlösung am besten in Reagensgläsern hergestellt, in der Weise, daß man eine 2—3 cm hohe Erdschicht (aus gesiebter gut humifizierter Gartenerde) mit einer ca. 5 cm hohen Wasserschicht (destilliertes Wasser oder Quellwasser) bedeckt und das Ganze sterilisiert. Ich erhitzte die mit wenig Wasser durchfeuchtete Erde bis zur Sterilisation und gab dann erst steriles destilliertes Wasser zu; auf diese Weise wird eine weniger dunkle Flüssigkeit gewonnen. Die Bodenschicht bleibt während der Kultur der Algen in der Erdlösung als Nährstoffreserve im Kulturgefäß.

A. Die Geißeln

I. Begeißelte und unbegeißelte Zellen

Nach MOEWUS haben auf 1,5%igem Agar gewachsene Zellen keine Geißeln (1938, S. 755, 757; 1939, S. 486). Meine Erfahrung ist, daß auch auf 2%igem Agar die Zellen teilweise begeißelt sind, und FÖRSTER u. WIESE fanden auf 1,5%igem Agar 0—90%, meist um 5% der Zellen begeißelt (1954, S. 470). Mit Sicherheit erhält man unbegeißelte Zellen, wenn man, wie MOEWUS (1939, S. 491) empfiehlt, 5%igen Agar verwendet, der in Petrischalen ausgegossen und durch 2—4 Wochen langes Warmstellen etwas ausgetrocknet ist. Beimpft werden diese Platten durch Ausgießen einer Algensuspension in steriler aqua dest., deren Flüssigkeit in einigen Stunden vom Agar aufgenommen wird. Geschieht das Impfen mit einem Spatel, so kommen die Zellen so dicht zu liegen, daß die zwischen ihnen sich haltende Feuchtigkeit für ein gewisses Geißelwachstum ausreicht.

Nach Übertragung in Wasser sollen geißellose Zellen unter der künstlichen Sonne (150 Watt-Lampe) in etwa 3 min die Geißeln entwickeln, und nach weiteren 2 min im Licht sollen die Geißeln beweglich werden (MOEWUS 1938, S. 755). Nach meinen Erfahrungen dauert es

bei 18—22° C im Tageslicht 30—60 min, im Durchschnitt 45 min, bis die Zellen voll beweglich sind, und FÖRSTER u. WIESE (1954, S. 470) fanden in der Regel eine halbe Stunde. Aber schon die kürzesten, gerade über die Zelloberfläche herausragenden Geißelstümpfe schlagen lebhaft hin und her.

MOEWUS verwendet als Lichtquelle einmal (1938, S. 757) eine 150 Watt-Lampe, bei Belichtung am Mikroskop (p. 758) eine Zeiss'sche Punktlichtlampe. Es ist nicht anzunehmen, daß in beiden Fällen die gleiche Lichtstärke auf die Zellen einwirkte. Die Geschwindigkeit des Geißelwachstums ist bei beiden Versuchsanordnungen gleich groß.

Es erscheint unwahrscheinlich, daß der Unterschied in der Lichtintensität zwischen der Versuchsanordnung bei MOEWUS und der eigenen Methodik (diffuses Tageslicht oder das Licht einer 60 Watt-Lampe) die bedeutend größere Wachstumsgeschwindigkeit, die MOEWUS mißt, veranlaßt.

Einen deutlichen Einfluß der Lichtstärke auf die Wachstumsgeschwindigkeit der Geißeln findet LEWIN (1953, S. 1091—1093) für seine *Chl. Moewusii* bei der Zunahme der Geißellänge von Agarzellen. Ein bestimmtes Wachstum benötigt 20 min bei einer Beleuchtung von 500 foot-candles, und 2 Std bei 5—10 foot-candles. Dabei ist zu berücksichtigen, daß Geißelwachstum auf Agar ohne Wasserzufuhr im Dunkeln überhaupt ausbleibt.

Die Geißellänge. Nach GERLOFF (1940, S. 331) besitzt die Peitschengeißel von *Chlamydomonas* über einem derben Stiel ein sehr feines Endstück, das GERLOFF nicht lebend im Dunkelfeld, sondern nur nach Färbung beobachten konnte. Es ist mir nicht gelungen das Peitschenende durch Färbung nach LÖFFLER sichtbar zu machen. Angaben über die Länge der Geißeln beziehen sich also auf das im Hellfeld bei genügender Vergrößerung (gewöhnlich wurde 700fache verwendet) sichtbare Stück.

MOEWUS (1931, 1933a, 1938) gibt an, die beiden Geißeln von *Chl. eugametos* seien stets so lang wie der — etwa 10μ lange — Körper. GERLOFF (S. 321/22) findet die Geißeln bei *Chl. Moewusii* $1\frac{1}{2}$ mal körperlang. Bei meinem Material war der Durchschnitt von 122 Messungen 1,3mal körperlang, und zwar in destilliertem Wasser ebenso wie in 0,05% Knopflösung und in Erdlösung. Die längsten Geißeln, durchschnittlich 1,5mal, maximal 1,8mal körperlang, fanden sich in einer 3 Monate alten Erdlösung-Kultur.

Einziehen und Abwerfen der Geißeln. FISCHER (1894, S. 205—230) meint, die Geißeln der Flagellaten würden immer abgeworfen, wenn sie verschwinden.

Aber nach der Aussäung begeißelter Zellen auf 5%igen Agar nimmt die Zahl der Zellen mit langen Geißeln ständig ab, von 93% vor dem Versuch auf 62% nach 15 min, 50% nach 30 min, 14% nach 45 min. Gleichzeitig nehmen die kurzen Geißeln (gewertet als $\frac{3}{4}$, $\frac{2}{3}$, $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{3}$, $\frac{1}{4}$ körperlang) stetig zu.

Danach ist kaum zu bezweifeln, daß die Substanz der Geißeln auf dem festen Substrat in den Zellkörper aufgenommen wird. LEWIN (1953a, S. 1091) findet Verkürzung der Geißeln bei *Chl. Moewusii* inner-

halb einer Woche an dunkel gehaltenen Agarzellen. Die Angabe von MOEWUS, daß die Geißeln im Dunkeln auch im flüssigen Substrat sogar schon nach 15—18 min eingezogen werden, konnte ich, wie auch S. 380 angeführt, nicht bestätigen.

Mehrmaliges Geißelwachstum. Für *Chl. Moewusii* beschreibt LEWIN (1953a, S. 1091—1093) ein erneutes Geißelwachstum an Zellen, die auf Agar im Dunkeln ihre Geißeln stark verkürzt hatten, sobald sie belichtet oder in destilliertes Wasser gegeben wurden. Ich fand normale Neubildung der Geißeln an Zellen, die ihre Geißeln durch kurze Einwirkung hoher Temperaturen oder von saurem Phosphatpuffer oder von 0,5 bis 0,05% Essigsäure verloren hatten. Sogar eine dritte Geißelbildung konnte an denselben Zellen erzielt werden.

II. Die Bedingungen der Geißelbildung in Flüssigkeit

1. Licht. Nach MOEWUS bedürfen geißellose Agarzellen von *Chl. eugametos* in reinem Wasser des Lichtes, um Geißeln zu bilden. Im Dunkeln soll die Geißelbildung durch verschiedene Zucker und durch Crocin ausgelöst werden (MOEWUS 1933b, 1938, 1939). Dabei sollen die Zucker nur bei Anwesenheit von Sauerstoff wirken, das Crocin dagegen auch unter anaeroben Bedingungen (MOEWUS 1938, S. 755; 1939, S. 488). Wie die anaeroben Bedingungen hergestellt werden, ist 1939, S. 487, mitgeteilt. Unter den Methoden findet sich auch Übersichten der im Reagensglas befindlichen Suspension mit Paraffinöl. Daß auf diese Weise der Sauerstoff nicht ausgeschaltet wird, liegt auf der Hand; die Geißelbildung soll sich ja im Laufe weniger Minuten vollziehen.

Herr Prof. RENNER teilt mir dazu mit: Das Manuskript der 1939 veröffentlichten Abhandlung enthielt noch nichts über die Art und Weise anaerober Behandlung. Erst auf briefliche Anfrage stellte MOEWUS die Methoden dar, die S. 487 publiziert sind, und den brieflichen Einwand, daß Übersichten mit Paraffinöl den erwarteten Dienst nicht tun könne, hat der Autor ignoriert.

Aber alles, was MOEWUS von der Rolle des Lichtes und der Zucker behauptet, ist unrichtig. Wie Herr Prof. Renner mich wissen läßt, hat Dr. Döring schon im Winter 1939/1940 in Jena festgestellt, daß unbegeißelte Zellen weder auf Licht noch auf Zucker angewiesen sind, um Geißeln zu entwickeln. Ich kann das bestätigen, Herr Prof. Renner hat sich in eigenen Versuchen davon überzeugt, und FÖRSTER und WIESE haben die gleiche Erfahrung veröffentlicht (1954, S. 470).

Auch die Geschwindigkeit des Geißelwachstums ist im Dunkeln keine andere als im Licht, wie an fixierten Proben (vergl. unten) ermittelt wurde.

Beweglichkeit im Dunkeln. Nach MOEWUS sollen im Licht beweglich gewordene Zellen, wenn sie ins Dunkle gebracht werden, die Bewegung einstellen, und zwar um so rascher, je kürzer sie belichtet waren (1938,

S. 758f.); nach 5 min Belichtung soll es im Mittel 1 min 3 sec dauern (man beachte die genaue Zeitangabe), nach 30 min Belichtung $5\frac{1}{2}$ min; nach 3, 4, 12 Std Belichtung etwa 60 min. In allen Fällen sollen nach weiteren 16—18 min die Geißeln eingezogen werden. Das alles ist nicht wahr. Die Zellen werden im Dunkeln im Lauf von Tagen nicht unbeweglich — das bestätigen auch FÖRSTER u. WIESE (1954, S. 470) —, noch weniger ziehen sie die Geißeln ein. Bei niederen Temperaturen ($3-8^{\circ}\text{C}$) waren im dunklen Thermostaten noch nach 10—14 Tagen freibewegliche Zellen mit voll ausgebildeten Geißeln vorhanden.

Dunkelstarre fand BOLTE (1920, S. 289, 300—322) bei *Chl. variabilis*, wenn die Schwärmer in Uhrschälchen, nicht im Kulturzylinder dunkel gestellt wurden, nach 2—3 Std Aufenthalt ohne Licht, aber die Geißeln blieben erhalten und wurden bei Belichtung nach 5—10 min wieder voll beweglich. Schwärmer von *Chl. eugametos* dagegen setzen sich in sehr hellem Licht, z. B. bei starker Beleuchtung am Mikroskop von unten her, bald fest. Das entspricht der Beobachtung von FRANK (1904, S. 163/64) an *Chl. tingens*, daß die Schwärmer am Tropfenrand um so schneller zur Ruhe kommen, je größer die Lichtintensität ist.

2. Glucose. 0,5—10%ige Glucoselösungen sollen nach MOEWUS (1938 S. 761) die Zellen rascher beweglich machen als Lösungen von 0,1 bis 0,01% (in 25 gegen 70 min). LEWIN (1953, S. 1092) findet im Gegensatz dazu, allerdings an seiner *Chl. Moewusii*, daß in 10% Glucose die Zellen über 1 Std lang plasmolysiert sind und noch nach 90 min kein Geißelwachstum erfolgt; erst von 5% Glucose an soll sich das Verhalten dem im Wasser nähern. Meine Erfahrungen passen mehr zu denen von LEWIN als zu denen von MOEWUS. In 10% Glucose (etwa 0,5 mol) werden die geißellosen Zellen zunächst plasmolysiert, erholen sich aber und zeigen nach 24 Std normale Geißeln. Werden begeißelte Schwärmer in 10% Glucose gebracht, so tritt zunächst Plasmolyse und Unbeweglichwerden der Zellen ein (für mindestens 30 min); es ist die Erscheinung, die FISCHER (1894, S. 222/23) allgemein für verschiedene Flagellaten wie *Chlamydomonas*, und in einer späteren Arbeit (1895, S. 76) auch für Bakterien beschreibt und hier als „Trockenstarre“ bezeichnet. Nach 24 Std waren 50% der Zellen wieder mit normalen Geißeln freibeweglich.

„Das Beweglichwerden im Dunkeln mit Sauerstoff“ ist 1938, S. 760, in einer Überschrift betont, auch 1939 (S. 486) ist vom Beweglichwerden die Rede. Später berichtet MOEWUS (1943, S. 420), daß Glucose wohl die Geißelbildung im Dunkeln hervorruft, aber nicht das Beweglichwerden. Worauf der Widerspruch gegen die früheren Angaben beruht, wird soviel ich finde nicht erörtert.

Die Experimente von MOEWUS über die Wirkung des Crocins auf unbegeißelte Dunkelzellen (1939, S. 480ff.) hat RENNER (1958) behandelt; eigene Erfahrungen mit Crocin haben wir nicht.

3. Salzlösungen. Weder in 0,05% Knop-Lösung noch in Volvox-Lösung nach MOEWUS (1937, S. 64) konnte eine Beschleunigung des Geißelwachstums erreicht werden. Es ließ sich eher eine schwache

Verlangsamung des Wachstums und eine zahlenmäßig geringere Begeißelung feststellen. Weiterhin wurde nur noch ein einzelnes Salz geprüft, nämlich KNO_3 . In einer Konzentration von 0,1% verlief das Wachstum wie in der Kontrolle, ebenso bei 0,2%. Bei 0,4% verzögerte es sich, und bei 1% wirkte KNO_3 schädigend. Wie auch FÖRSTER u. WIESE (1954a, S. 470) fanden, geht die Geißelbildung von *Chl. eugametos* am besten in aqua dest. vor sich.

4. pH-Werte. Im allgemeinen wurden Phosphatpuffer nach STRUGGER (1937, S. 254f.) verwendet, für die Bereiche pH 2,0—11,1, im basischen Bereich, für pH 9,2—10,7, auch Carbonat-Bicarbonat-Puffer nach DELORY u. KING (1951, S. 146). Die Messung des pH -Wertes geschah mit der Glaselektrode, und bevor diese zur Verfügung stand mit der Chinhydronelektrode. Die Temperatur betrug $20 \pm 2^\circ \text{C}$. Es wurde jeweils ein Reagensglas mit 5 ml Pufferlösung beschickt, ein zweites als Kontrolle mit destilliertem Wasser; annähernd neutrale Puffer mit pH 6—7 gaben keine anderen Resultate als das destillierte Wasser. Die Dichte der Zellsuspensionen wurde für diese Versuche so gering gehalten, daß kein grüner Schimmer mehr sichtbar war, weil bei höherer Zelldichte im Bereich von pH 10,1—10,7 die Zahl der beweglichen Zellen, im Vergleich zu Kontrollen mit geringer Zelldichte, am zweiten Tag merklich größer wurde und als Ursache eine Verschiebung des pH -Werts um 0,3—0,5 Stufen gegen den sauren Bereich erkannt wurde.

Im basischen Bereich waren pH -Werte von 7,6—7,8 ohne Einfluß auf das Geißelwachstum. Bei pH 8,2—8,7 war das Wachstum etwas verlangsamt, bei pH 8,7—9,8 noch mehr, auch die Zahl der begeißelten Zellen verringert. Bei 10,0—11,1 wurden fast keine Geißeln mehr gebildet; vereinzelte Geißeln wuchsen noch bei pH 10,3. Geißelstümpfe von $\frac{1}{2}$ -Körperlänge wuchsen zur normalen Länge weiter in pH 9,8, bei pH 10,0 und 10,3 nur noch wenige. Bei pH 10,5 wurden die Geißelstümpfe abgeworfen. Voll ausgebildete Geißeln wurden von pH 10,1 an in ihrer Beweglichkeit beeinträchtigt. Aber einzelne bewegliche Zellen finden sich am 2. Tag noch bei pH 10,5.

Im sauren Bereich ist das Geißelwachstum bei pH 5,8 normal, bei pH 5,6—5,2 deutlich verzögert, bei pH 5,0 kam nur die Hälfte der Zellen zur Geißelbildung, bei 4,6—3,8 fast keine Zellen mehr. Voll ausgebildete Geißeln wurden im Lauf einiger Stunden vermindert in pH 5,7—5,2. Bei pH 4,7—4,5 verlieren die Zellen in den ersten 10 min die Geißeln, bei pH 3,7 geschieht das schon in der ersten Minute.

MOEWUS, der andere Puffergemische verwendet hat, gibt ähnliche Werte an: die Zellen werden beweglich zwischen pH 4,5 und 9 (1933b, S. 475).

Schädigung der Chloroplasten beginnt im basischen Bereich bei pH 10,1, im sauren bei pH 5,0.

5. Temperatur. Genauer wurde die Geschwindigkeit des Geißelwachstums bei verschiedener Temperatur verfolgt. Es wurden Proben der in Wasser suspendierten Zellen in Abständen von 2—3 min, später

von 10—30 min mit Osmiumsäuredämpfen fixiert. Zur Fixierung größerer Mengen wurde Jodjodkalium (nach ROMEIS 1948, S. 73) verwendet (Zugabe von 0,01% JJK reicht aus), aber dabei erschienen die Geißeln oft wellig oder an den Enden eingerollt, so daß Messung kaum möglich war. Die Beobachtung erfolgte bei 700facher Vergrößerung.

MOEWUS will in Hunderten von Versuchen die Geißeln dadurch fixiert haben, daß er der Suspension das gleiche Volumen absoluten Alkohols zusetzte (1939, S. 492). Ich finde, daß bei dieser Behandlung, unter Schrumpfung des Protoplasten, die allermeisten Geißeln abgeworfen werden, ebenso wenn begeißelte Agarzellen in 50%igen Alkohol eingetragen wurden. 60-, 70-, 80-, 96%iger Alkohol wirkt nicht anders, ebenso 24- und 10%iger, 50%igem Alkohol müssen mindestens 4% Jodjodkalium zugesetzt werden, wenn die Geißeln fixiert werden sollen. In 4,8 und 2,4% Alkohol bleiben die Schwärmer mindestens in den ersten Stunden gut beweglich.

Es wurden zu den Versuchen nur Kulturen verwendet, die noch durchaus die längliche und schlanke Form der Schwärmer aufwiesen, in denen diese also noch nicht angefangen hatten sich abzurunden. Aber auch wenn die Kultur recht einheitliche Zellformen zeigt, beginnen nicht alle Individuen gleichzeitig mit der Geißelbildung.

In den Versuchen wurde vor allem die Zeit bestimmt, die bis zur Entstehung körperlanger Geißeln nötig war. Auch $\frac{1}{4}$ -, $\frac{1}{3}$ -, $\frac{1}{2}$ - und $\frac{3}{4}$ -körperlang wurde in den meisten Fällen protokolliert. Die Schätzung geschah nach dem Augenmaß an Zellen von mittlerer Größe; sehr kleine Schwärmer haben oft im Verhältnis zum Zellkörper recht lange Geißeln. Als „Ansätze“ wurden Geißellängen notiert, die unter $\frac{1}{4}$ -körperlang lagen. Für den Vergleich der Werte verschiedener Versuche wurde der

Tabelle 1. *Geißelwachstum und Temperatur*

Temperatur in °C	Zeit für Körperlänge	n	Zeit für $\frac{1}{2}$ -Körper- länge	n
2—4	8½ Std	2	365 min	2
5—7	5 Std	1	132 min	5
8—10	4 Std	1	97 min	3
11—13	2 Std	2	63 min	3
14—16	70 min	3		
17,5—19,5	49 min	19		
20—22	43 min	24		
23—25	35 min	7		
26—28	32,5 min	4		
29—31	31 min	5		
32—34	32,5 min	4		
35—37	42 min	6		

Wert des schnellsten Wachstums gewählt, falls er nicht eindeutig ein Maximum ganz weniger Zellen darstellte. Die Untersuchungen bei Zimmertemperatur, d. h. bei 17,5 bis 22° C, wurden ohne Thermostaten im Tageslicht ausgeführt. Für höhere und niedrigere Temperaturen wurden die Reagensgläser mit den Algen in 500 cm³-Erlenmeyerkolben eingetaucht, in denen das Wasser auf den gewünschten Wärmegrad gebracht war.

Die Tabelle zeigt die Mittelwerte der Zeitspannen, die für die Bildung körperlanger Geißeln bei Temperaturen zwischen 2 und 37° benötigt werden, und für den Bereich von 2—13° noch die Werte für die Erreichung der halben Körperlänge; n ist die Zahl der Versuche.

Die Geschwindigkeit des Geißelwachstums in Abhängigkeit von der Temperatur, im Bereich von $+2^{\circ}$ bis $+37^{\circ}$ C, stellt die Abb. 1 dar. Die Kurve der Geschwindigkeit steigt von $2-12^{\circ}$ allmählich an, von da stärker bis zum Optimum bei $30 \pm 2^{\circ}$, und fällt dann rasch bis 37° .

Der Temperaturquotient wurde berechnet

bei	2—12°	6—16°	12—22°	16—26°	20—30°	22—32°	26—36°
Q ₁₀	—	3,5	2,5	2,2	1,4	1,3	0,7

Bei diesen Berechnungen wurde die durchschnittliche Wachstumsgeschwindigkeit vom Beginn der Geißelbildung bis zur Erreichung der Körperlänge ins Auge gefaßt.

Da aus nahezu allen Versuchsprotokollen auch die Zeitspanne bis zur Erreichung von $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$ und $\frac{3}{4}$ der Körperlänge zu entnehmen ist, können die Wachstumsgeschwindigkeiten für die einzelnen Abschnitte der Geißel berechnet werden. Wie Tabelle 2 zeigt, nimmt die Wachstumsgeschwindigkeit mit der Zeit etwas zu, denn für die Erzeugung des ersten Viertels wird ungefähr ein Drittel der Gesamtzeit benötigt, für die Bildung der ersten Hälfte 60%. Eine große Periode des Wachstums ist nicht vorhanden, es ist also zu vermuten, daß der Zuwachs vorzugsweise von der Basis her stattfindet, sich nicht über die ganze Länge der Geißel verteilt. Das Ausklingen des Wachstums wurde nicht verfolgt.

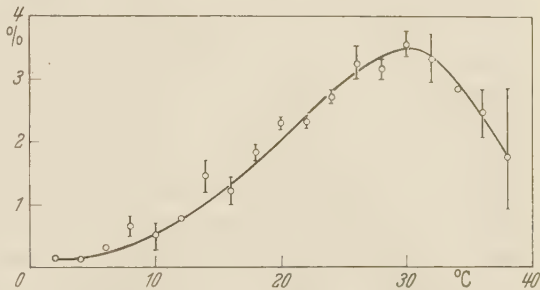


Abb. 1. Wachstum der Geißeln, ausgedrückt in % der Körperlänge pro Minute. Gesamtzahl der Versuche $n = 85$

Tabelle 2. Vergleich der Durchschnittswerte für das Wachstum in den einzelnen Bereichen innerhalb der körperlangen Geißel

(In % der Gesamtwachstumszeit von körperlangen Geißeln angegeben.)

Temperaturbereiche $^{\circ}$ C	Bis zu $\frac{1}{4}$ kl %	Von $\frac{1}{4}-\frac{1}{2}$ kl %	Bis $\frac{1}{2}$ kl %	Von $\frac{1}{2}$ bis kl %
2—6	36,6	28,6	65,2	34,8
12—16	30,4	32,8	63,2	36,8
17,5—19,5	31,5	28,3	59,8	40,2
20—20	32,7	26,9	58,6	41,4
23—31	31,3	22,3	53,6	46,4
31—37	37,0	24,4	61,4	38,6
	33,2	27,2	60,4 ~60	39,6 $\sim 40 \left\{ \begin{array}{l} \frac{1}{2}-\frac{3}{4} \text{ kl } 20\% \\ \frac{3}{4} \text{ kl—kl } 20\% \end{array} \right.$

Die Durchschnittswerte für das Wachstum von $\frac{1}{2}-\frac{3}{4}$ kl und $\frac{3}{4}$ kl—kl wurden nicht berechnet. Die Länge „ $\frac{3}{4}$ kl“ ist schwer zu schätzen; die Strecke wurde wahrscheinlich öfter zu lang geschätzt.

MOEWUS gibt für die untere Grenze des Beweglichwerdens $+4^{\circ}$ an (1939, S. 469), als obere 36° (l. c. S. 475). Hier können wir ihm zustimmen. Bei $37.5-38.5^{\circ}$ fand ich ein Abnehmen der Beweglichkeit und der Begeißelung schon in den ersten 15 min, und nach 60 min waren die Zellen unbegeißelt. Aber für kurze Zeit wurden auch 40° vertragen: aus Zimmertemperatur in höhere Temperaturen gebracht, erwiesen sich nach 1 min Einwirkung von 40° noch 70—80% der Zellen beweglich, nach 3 min 50%, nach 50 min $<10\%$.

FRANK (1904, S. 171) findet einen Einfluß der Temperatur auf die *Schwärmerbildung* von *Chl. tingens*, der gut mit diesen Ergebnissen parallel geht: Temperaturen von 16° an aufwärts wirken beschleunigend; Optimum der Schwärmerbildung: $28-30^{\circ}$; keine Schwärmerbildung mehr bei 35° ; unterhalb von 16° verlangsamt sich der Prozeß, und bei 3° bleibt die Bildung von beweglichen Individuen überhaupt aus.

B. Chemotaxis

I. Methoden

1. Das Verfahren von MOEWUS. An den Versuchen von MOEWUS ist schon die Methode ungewöhnlich. Er führt nicht, wie es seit PFEFFER (1884 u. 1888) üblich ist, die Capillare mit der zu prüfenden Lösung in einen Tropfen — ohne oder mit Deckglas — ein, der die Schwärmer enthält. Sondern er bringt eine „stets gleiche Menge Kulturlösung (geeichte Kapillarpipette)“ in die Mulde eines hohlgeschliffenen Objektträgers, setzt die Capillarenmündung an den linken Rand des Tropfens, und „bringt unmittelbar darauf eine bestimmte Algenmenge an die rechte Randzone“ (S. 499). Wie groß die Strecke ist, die die Algen zu durchschwimmen haben, wird nicht gesagt, nur daß der Tropfen „stets gleich groß“ war (S. 514). Auch wie groß die zugeführte Algenmenge war, erfahren wir nicht. Es heißt nur, daß die Suspension, aus der „eine bestimmte Menge“ entnommen wurde, etwa 2 Millionen Zellen im Kubikzentimeter enthielt. „Man spricht von deutlicher positiver Reaktion, wenn eine große Menge der Algenzellen um das Kapillarende angesammelt und in die Kapillare eingedrungen ist“ (S. 499). Später wird ermittelt, in welcher Zeit 18—22 Zellen sich an der Capillare versammelt haben; also gilt diese Zahl schon als ausreichend.

Unter „negativer Reaktion“ versteht MOEWUS „keine Ansammlung am Kapillarende“; andere Autoren nennen das indifferentes Verhalten. Von dem was man negativ chemotaktisches Reagieren nennt ist bei MOEWUS nie die Rede.

2. Die in den eigenen Versuchen angewandten Verfahren. In den allermeisten Fällen wurde die von PFEFFER, FRANK, PRINGSHEIM u. a. verwendete Methode befolgt. Die Suspensionen von auf 2%igem Agar gewachsenen Zellen wurden mit destilliertem Wasser hergestellt; über die Bildung der Schwärmer aus dem geißellosen Zustand ist oben berichtet. Die Zellaufschwemmungen waren ungefähr halb so dicht

wie die von MOEWUS (für andere Zwecke) verwendeten, enthielten also ungefähr 1 Million Zellen im cm^3 oder noch weniger; PFEFFER weist wiederholt darauf hin, daß die Beurteilung der chemotaktischen Reaktion bei dünnen Suspensionen leichter ist.

MOEWUS gibt an, die Algen in 0,0001 %iger Crocinlösung auf Chemotaxis geprüft zu haben, weil sie ja sonst im Dunkeln nicht beweglich sein sollen. In meinen Versuchen befanden die Zellen sich in destilliertem Wasser.

Wie schon PFEFFER getan hat, wurden gelegentlich die Schwärmer in einer Lösung suspendiert und in der Capillare destilliertes Wasser geboten. Diese Behandlung wird im Folgenden als „Gegenversuch nach PFEFFER“ bezeichnet. Einigemal wurde die von KUSANO (1909, S. 72f.) angegebene Methode versucht. Hier werden die Schwärmer in die Capillare gefüllt und die Capillare in einen Tropfen der zu prüfenden Lösung eingelegt. Zum Vergleich wurde auch die Methode von MOEWUS angewandt, teilweise ganz nach seiner Vorschrift, teilweise mit einer mir zweckmäßig erscheinenden Abwandlung: Als „Randversuche“ bezeichne ich solche, in denen eine Probe Suspension an den einen Rand des Wassertropfens gegeben und von der anderen Seite die Capillare in die Nähe der makroskopisch sichtbaren grünen Wolke geschoben wird; für diese Versuche ist eine etwas dichtere Algensuspension günstig. Auf diese Weise wird der Weg, den die Schwärmer zurücklegen müssen, sehr kurz gehalten.

Die Capillaren wurden aus sorgfältig gereinigten Glasröhrchen gezogen und jeweils nur zu einem Versuch verwendet. Die lichte Weite war etwa 0,1 mm, die Länge 2—3 cm. Die Füllung geschah durch Aufsteigenlassen der Lösung in die beiderseits offene Capillare, Abschmelzen am einen Ende und Zurechtschneiden des anderen Endes mit einer Schere. In jedem Fall wurde darauf geachtet, ob nicht etwa eine beim Abschneiden eingedrungene Luftblase die Capillarenmündung versperre. Beobachtet wurde bei 50facher, wenn die einzelnen Zellen verfolgt werden sollten bei 100facher Vergrößerung.

Die phototaktische Reizbarkeit der Schwärmer stört die Versuche kaum bei Anwendung der Pfefferschen Methode (gearbeitet wurde an einem Nordfenster). Experimente nach MOEWUS wurden in der Dunkelkammer ausgeführt, und Vorbereitung und Beobachtung geschahen bei Rotlicht.

Die Anzahl der mit der gleichen Konzentration eines Reizstoffes durchgeführten Versuche war unterschiedlich, je nach der Klarheit der Ergebnisse. Mindestens 3 Versuche wurden mit einer Lösung und mit verschiedenen Kulturen zum Vergleich angestellt.

II. Das chemotaktische Verhalten

1. Die Arten des Reagierens. Ausgangspunkt für die Beurteilung des Verhaltens der in destilliertem Wasser befindlichen Schwärmer gegen *Lösungen* in der Capillare ist die Beobachtung der Zellen, wenn auch die Capillare destilliertes Wasser enthält. (Am besten geschieht der Vergleich im selben Versuchstropfen mit 2 Capillaren, wovon die eine mit einer Lösung, die andere mit aqua dest. gefüllt ist.) Einschwärmen einzelner Algen in die Capillare findet natürlich oft statt, auch Festsetzen

von Schwärmern in der Capillare oder an ihrem Rand, aber eine auffallend höhere Dichte der Suspension in der Capillare kommt nicht zustande.

Reaktion im weitesten Sinne ist auch eine Lähmung der Schwärmer, die dann am Capillarmund sich sammeln können. Diese Ansammlungen, die je nach der Dichte der Suspension mehr oder weniger groß werden, können bei flüchtigem Betrachten eine positive chemotaktische Reaktion vortäuschen. Aber nur solange die Zellen in der Ansammlung größten-



Abb. 2. $a_{1-2} r$. Die Schwärmer, die sich ursprünglich nahe der Mündung angesammelt hatten, verteilen sich allmählich rückwärts in die Capillare. Vergrößerung: ~ 120 fach. Chemotaktikum: 0,01 % NH_4NO_3 . — Zu den photographischen Aufnahmen wurden die Versuche mit größerer Zelldichte als gewöhnlich vorgenommen, weil so eindrucksvollere Bilder zu erhalten sind

teils beweglich bleiben, kann von *positiver* Reaktion gesprochen werden. (In allen Zweifelsfällen wurden gut bewegliche Zellen zum Vergleich direkt in einer Probe der Lösung suspendiert und beobachtet, ob eine Herabsetzung der Beweglichkeit eintritt.) Die Größe der beweglichen Ansammlungen und ihre Lage zur Capillare galten als Maß für die Stärke der Reaktion. Wichtig ist die sofortige Beobachtung nach Zugabe der Capillare, weil die Entstehung der Ansammlung verfolgt werden soll.

Bei sehr guter Anlockung ohne Abstoßung (z. B. durch 0,01 % KNO_3) bildet sich aus einem zunächst im Diffusionsfeld vor der Capillare versammelten Schwarm von Zellen ein Pfropf im Capillarmund, der sich unter Auflockerung bald nach innen zieht: ein spätes Stadium zeigt Abb. 2. Bei etwas höherer Konzentration (z. B. 0,1 % KNO_3) hat der

Schwarm in der Diffusionszone größere Ausdehnung, aber der starke Pfropf von Zellen bleibt infolge der abstoßenden Wirkung der Capillarlösung in der Nähe der Mündung, und nur wenig Zellen schwimmen weiter nach innen (Abb. 3). Noch höhere Konzentrationen (z. B. 1% KNO_3) rufen lockere Ansammlungen in Form einer größeren Wolke hervor, aus der die Schwärmer kaum in die Capillare eindringen: wie

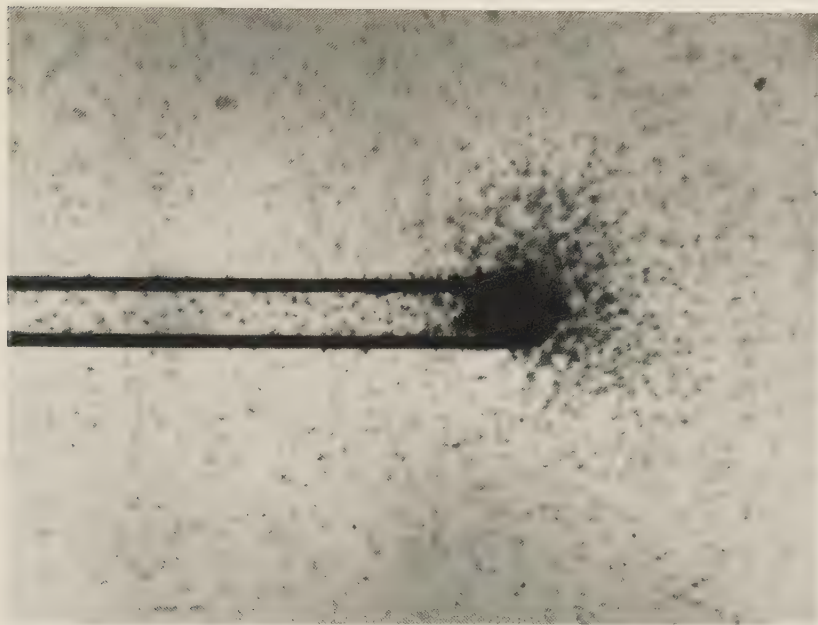


Abb. 3. $a_2 r_{1-2}$. Aus den angesammelten Schwärmern hat sich im Capillarmund ein Pfropf gebildet; auf Grund der abstoßenden Wirkung dringt die Masse der Zellen nicht tiefer in die Capillare vor. Vergrößerung: ~ 120 fach. Chemotaktikum: 0,1% NH_4NO_3

Eintragen der Zellen in die Lösung zeigt, wirkt diese deutlich schädigend. Es ist also wohl zu unterscheiden zwischen der Wirkung der Lösung in der Capillare und der des Stoffs im Diffusionsfeld.

Für die eindeutig *negative* Reaktion sind Bildung eines zellfreien Raumes im Umkreis der Capillarmündung und das Freibleiben der Capillare von Schwärmern bezeichnend (Abb. 4). Verteilen sich die Schwärmer um und in der Capillare in gleicher Dichte wie im übrigen Teil des Tropfens, so liegt indifferentes Verhalten vor.

Zur Beurteilung schwacher Reaktionen und zur Festlegung des Schwellenwertes wurde das Verhalten der einzelnen Zellen beobachtet. Hierbei wird die positive Reaktion am klarsten von den Zellen demonstriert, die seitlich auf die Diffusionszone treffen; sie schwenken entweder direkt zur Capillarmündung (anscheinend topisch), oder sie prallen, wenn sie an der Capillaröffnung vorbeigeschwommen sind, kurz

zurück (wohl phobisch), um dann in die Capillare einzubiegen. Die negative Reaktion besteht bei Zellen, die in der Verlängerung der Capillare gegen die Mündung schwimmen, in einem heftigen Zurückstoßen, wobei manchmal eine Strecke bis zu 10facher Körperlänge zurückgelegt wird: dieses Zurückstoßen kann mehrfach wiederholt werden, falls die Zellen in gleicher Richtung wieder voranschwimmen, meist kehren sich die Zellen aber von der Diffusionszone überhaupt ab.

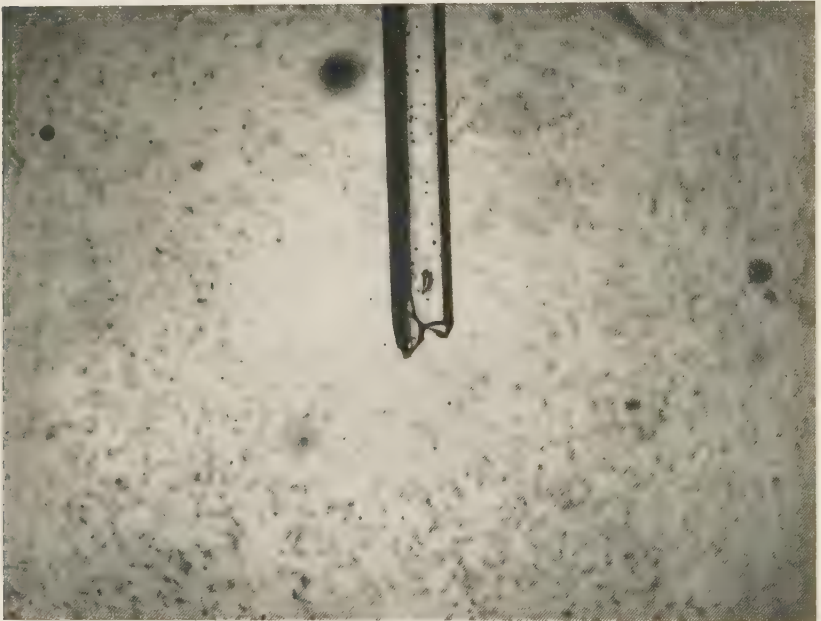


Abb. 4. r_2 . Durch starke Abstoßung der Schwärmer bildet sich eine zellfreie Zone um die Capillarmündung. Vergrößerung: ~ 100 fach. Chemotaktikum: 1% Essigsäure

Bei schädigenden Lösungen geht das Zurückstoßen in ein langsamerer Rückwärtsschwimmen über, wobei die Geißeln gegen die Capillare gewendet bleiben und die Zelle rückwärts schieben; weiterhin schwimmen die Algen entweder nach plötzlicher Wendung unter normaler Geißeltätigkeit von der Capillare weg, oder sie beschließen, allmählich langsamer werdend, das Umherschwimmen¹. Mit einem einfachen mehr oder weniger heftigen Abschwanken von der Reizlösung reagieren solche Zellen, die seitlich auf die Diffusionszone treffen oder sich sehr langsam schwimmend nähern.

Als Schwellenwert für die positive Reaktion faßte ich die Konzentration der Reizlösung auf, die eine gerade noch erkennbare Ansammlung in der Capillare veranlaßt, d. h. bei der nur noch ein Teil der mit dem

¹ Eingehender hat ULEHLA (1911, S. 689ff.) das Verhalten der Geißeln bei Lichtreizung beschrieben.

Chemotaktikum in Berührung kommenden Zellen positiv reagiert. Die Festlegung des Schwellenwertes negativer Reaktionen ist schwieriger, da auch bei Blindproben immer wieder ein Zurückstoßen der Zellen im Capillarmund zu beobachten ist, das vielleicht eine Antwort auf Berührungsreize ist. Als Zeichen eben noch erkennbarer Repulsionswirkung wurde die Erscheinung genommen, daß mehrfach Zellen im Capillarmund nach außen umkehren oder auch schon vor ihm zurückweichen ohne dabei heftig zu reagieren; bei solchem Verhalten enthält die Capillare noch nach geraumer Zeit eine beträchtlich dünnere Zellsuspension als das Außenmedium. Zellen, die ohne jedes seitliche Abbiegen rechtwinklig zur Capillare durch die Diffusionszone schwimmen, erweisen sich damit als indifferent.

Bei den chemotaktischen Reaktionen spielt vielleicht auch die Verschiedenheit der Diffusionsgeschwindigkeit eine Rolle; so fällt bei Versuchen mit Zuckerlösung auf, daß die Zellen in geringerer Entfernung vom Capillarmund reagieren als bei Mineralsalzen, Alkoholen und Essigsäure.

Das Verhalten der Schwärmer war in verschiedenen Versuchen, wohl im Zusammenhang mit den Bedingungen der vorangegangenen Kultur, nicht ganz gleichmäßig. Dies macht die Beurteilung der Ergebnisse mitunter schwierig.

Die Bezeichnung der Versuchsergebnisse. Zur Protokollierung der Versuche wurden die Beobachtungen meist kurz in Worten geschildert. Für eine übersichtliche Darstellung der Ergebnisse erschien die Bezeichnungsweise von PFEFFER (1888, S. 599ff.) geeignet. Er gibt als Zeichen für Anlockung a , für Repulsion r und stuft ab von a_3 bis a_1 bzw. r_3 bis r_1 ; fragliche Reaktionen werden durch $a?$ oder $r?$ ausgedrückt. Der höchste Anlockungswert a_3 wurde unserem Objekt nirgends zugebilligt, denn die großartige Bestimmtheit, mit der z. B. Farnspermatozoiden und Rhodospirillen reagieren können, wird von *Chlamydomonas eugametos* wohl bei keinem der angewandten Chemotaktika erreicht. Dabei bleibt immer noch fraglich, ob die gewählten Stufen den von PFEFFER mit den gleichen Symbolen bezeichneten entsprechen; einen gewissen Anhaltspunkt bietet die Tatsache, daß die stärkste positive Reaktion bei *Chl. pulvisculus* von PFEFFER mit a_2 bewertet wird (1888, S. 614).

Da PFEFFER a_1 mit „eben merkliche Anziehung (Schwellenwert oder wenig mehr)“ definiert, habe ich solche Reaktionen, durch die noch eine einigermaßen dichte Ansammlung in der Capillare zustande kam, mit a_{1-2} bezeichnet. Die wenigen gut positiven Reaktionen bekamen die Bezeichnung a_2 . Alle schwach positiven Reaktionen, die nur kleine Ansammlungen von Zellen an und in der Capillare erzielten, wurden mit a_1 bewertet. Schwellenwerte wurden mit $a?$ bzw. $r?$ oder $a?-\emptyset$ bzw. $r?-\emptyset$ angedeutet. Indifferentes Verhalten trägt die Bezeichnung $\emptyset$.

Für r_1 gibt PFEFFER die Definition: „ganz schwache Repulsion“, für r_2 „starke Repulsion“. Deutlich abstoßende Wirkung von geringerer

Stärke, als sie z. B. bei Essigsäure erreicht wird, bekam daher die Bewertung r_{1-2} .

Wie schon PFEFFER hervorhebt, laufen neben Erscheinungen der Anlockung häufig solche der Abstoßung einher. Die Ursachen mögen verschiedener Art sein.

Bei hohen Konzentrationen liegen vielleicht positive Chemotaxis und negative Osmotaxis miteinander im Streit; so versteht auch PRINGSHEIM (1921, S. 109) das Nebeneinander beider Reaktionsweisen. Bei sauer reagierenden Substanzen könnte die Abstoßungskomponente von den Wasserstoffionen herrühren. Aber auch bei neutralen Elektrolyten könnten die beiderlei Ionen verschiedene Wirkung haben. Eine kausale Analyse in diesem Sinne wurde nicht versucht. Vielleicht täuschen auch Bewegungen, die durch Berührung der Geißeln mit der Capillarmund oder durch Berührungen zwischen den wimmelnden Schwärmern verursacht sind, mitunter Abstoßung durch die Lösung vor.

MOEWUS vertritt auf Grund seiner Ergebnisse mit 1 mol Saccharose die Ansicht, daß bei *Chl. eugametos* Osmotaxis fehlt (1939, S. 505). Negative Osmotaxis für Chlamydomonaden wird verzeichnet von: PFEFFER (1884, S. 444/45 u. 1888, S. 616), MASSART (1889, S. 559ff.) und PRINGSHEIM (1912, S. 358/59).

Die Geschwindigkeit der Bewegung ist bei den Chemotaxisversuchen schwer zu bestimmen. An sehr gut phototaktisch reagierenden Schwärmern aus einer Erdlösungskultur wurden 90 sec für eine Strecke von 9 mm gemessen, also etwa $100 \mu/\text{sec}$, was dem 10fachen der Körperlänge entspricht. Nach METZNER (1923 S. 474) sind 10—15 Körperlängen in der Sekunde bei Farnspermatozoiden eine hohe Geschwindigkeit.

2. Die Reaktion auf verschiedene Stoffe. a) *Fleischextrakt*. Gute positive Reaktionen wurden unter den geprüften organischen Substanzen nur durch LIEBIGS Fleischextrakt hervorgerufen, den schon PFEFFER (1884 S. 614) und FRANK (1904, S. 178) als gutes Chemotaktikum für *Chlamydomonas* erkannt haben. Am günstigsten wirken 1- und 0,1%ige Lösungen (p_H -Wert etwa 5,6); 0,01 und 0,001% sind schwach positiv wirksam. Anscheinende Repulsion kommt bei 1 und 0,1% in der Ansammlung vor dem Capillarmund zum Ausdruck. Abstoßung der Chlamydomonaden durch Fleischextrakt (allerdings bei höheren Konzentrationen) fehlte auch bei PFEFFER nicht (1888, Tabelle 2, S. 614: 5% $a_1 r_1$, 1% $a_2 r_1$, 0,1% ?), obwohl er den Fleischextrakt neutralisierte.

Nach der Methode von MOEWUS waren mit 1% Fleischextrakt in 2—4 min Ansammlungen von 5—10, selten von rund 30 und mehr Zellen zu erzielen, mit 0,5 und 0,1% nicht einmal das. Der Weg, den die Schwärmer dabei zurückzulegen hatten, war etwa 7—9 mm. Wurde im „Randversuch“ die Capillare nahe an die Zellen herangebracht, so fanden sich schon nach 30 sec rund 30 und mehr Zellen am Capillarmund und im Innern der Capillare ein. Wie sich von selber versteht, kommt eben alles auf die anfängliche Entfernung zwischen Algen und Capillare an. Aber viel eindrucksvollere Reaktionsbilder liefert die Pfeffersche Methode. — MOEWUS selbst hat Fleischextrakt nicht geprüft.

b) *Pepton und Aminosäuren*. Als wesentlicher Bestandteil des Fleischextraktes wurde *Pepton* geprüft. 0,01% und zum Teil 0,001% rufen schwach positive Reaktionen hervor. Von 1—0,1% überwiegt

die repulsive Wirkung. Ansammlungen, die bei diesen Konzentrationen entstehen, sind mit α ? zu bezeichnen, da sie zumindest mitveranlaßt sind durch eine Hemmung der Schwärmer, die in die Diffusionszone geraten sind. Bei direkter Zugabe von beweglichen Zellen aus Wasser in 1%ige Lösung setzen sie sich zunächst fest, sind nach ungefähr 15 min aber wieder gut beweglich. Gibt man begeißelte Zellen von Agarröhrchen in diese Peptonlösung, so ist keine Verminderung der Beweglichkeit zu beobachten.

Glykokoll. Die meisten Zellen biegen vor der Capillare mit 10% (= 1,33 mol) ab, Ansammlung am Capillarmund beruht wohl auf Lähmung; die in die Capillare eingedrungenen Zellen werden eckig deformiert. Bei 1% herrscht Repulsion gegenüber Anziehung vor; bei 0,1% werden leichte Ansammlungen im Capillarmund beobachtet, daneben ist auch ein Abschwanken der Zellen vom Capillarmund noch deutlich. Gegenüber 0,01% ist das Verhalten schon ziemlich indifferent. Der p_H -Wert der 1%igen Lösung ist 5,4.

Alanin. Im großen und ganzen ist das Verhalten gegen d,l-Alanin indifferent. Von den Capillaren mit 10% biegen die Schwärmer ab, teilweise reagieren sie auch bei 1% so. Kleine Zellansammlungen kommen bei 1 und 0,1% vor, sind aber kaum als positive Reaktion zu verstehen. Der p_H -Wert der 1%igen Lösung war 4,8–5.

MOEWUS fand Glykokoll chemotaktisch unwirksam, d,l- α -Alanin stellt er dagegen zu den positiv wirksamen Substanzen (1939, S. 506).

c) *Zucker.* Am auffälligsten ist MOEWUS' Befund bei *Rohrzucker*, der in molarer Lösung (34,2%) positiv chemotaktisch wirken soll, bei 0,1 und 0,01 mol aber nicht (1939, S. 504). Ich finde bei 1 mol vorzugsweise negative Reaktion, insofern die Schwärmer von der Capillarmündung abbiegen. Einzelne Zellen dringen in die Capillare ein, und wenn sie diese nicht nach kurzer Zeit wieder verlassen, werden sie plasmolysiert, bei eckiger Deformation der Protoplasten, bleiben liegen und sterben ab, wie das Körnigwerden des Plasmas anzeigt. Auffallenderweise kommt es auch vor, daß eine Zelle, die im Begriff scheint aus der Lösung zu fliehen, am Capillarmund zurückschreckt und dann der Plasmolyse verfällt. Bei Versuchen mit KUSANOs Methode schrecken die Schwärmer in der wassergefüllten Capillare vor dem eindringenden Zucker zurück und werden in einiger Entfernung vom Capillarmund unbeweglich. Bei der Anwendung der Methode von MOEWUS, besonders in „Randversuchen“, kam es zu kleinen Ansammlungen von Zellen, die vor oder in der Capillare gelähmt liegen bleiben. Negative Reaktionen von einer Entschiedenheit, wie sie PFEFFER für *Chl. pulvisculus* (1884, S. 444/45) beschreibt, kommen nicht vor, eine wohlausgebildete negative Osmotaxis ist also nicht vorhanden. $\frac{1}{2}$ mol (17,1%) wirkt ähnlich; die Zellen sterben ab. Bei 0,1 mol ($\frac{3}{4}$ %) ist die Abstoßung noch deutlich, Anlockung ist fraglich, Schädigung bleibt aus. Bei 0,01 mol brachten einige Versuche schon ein indifferentes Ergebnis.

Der „Gegenversuch“ nach PFEFFER läßt sich mit 0,1 mol Saccharose ausführen, weil die Zellen sich an diese Lösung gut gewöhnen. Die in der Zuckerlösung schwimmenden Zellen weichen der mit destilliertem Wasser gefüllten Capillare aus. Zellen, die einmal eingedrungen sind und sich eine Zeitlang darin aufgehalten haben, schrecken nun wieder vor der Lösung am Capillarmund zurück. Die Umstimmung scheint also ziemlich rasch einzutreten.

Von den übrigen Zuckern, die MOEWUS verwendet hat, konnte ich Glucose, Maltose, Lactose, Cellobiose und Raffinose prüfen. Keiner dieser Zucker ergab ein so eindeutig positives Ergebnis wie z. B. Fleischextrakt.

Nur bei *Maltose* und *Lactose* ließ sich schwache positive Wirkung beobachten, bei *Maltose* im Bereich von $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{100}$ mol, bei *Lactose* bei $\frac{1}{10}$ mol. Auch mit *Glucose*, *Raffinose* und *Cellobiose* waren kleine Zellansammlungen zu bekommen, die nicht nur auf passive Weise entstanden schienen; da aber auch indifferentes Verhalten gegenüber $\frac{1}{10}$ und $\frac{1}{100}$ mol dieser Zucker auftrat, kann die positive Chemotaxis nur mit $a?$ bewertet werden. Repulsive Wirkung war fraglich.

MOEWUS will Glucose noch bei 10^{-3} mol wirksam gefunden haben. In meinen Versuchen brachten bei Anwendung seiner Methode 0,1 und 0,01 mol Glucose keine Ansammlung zustande, wohl aber, vielleicht zufällig, 0,1 mol Maltose.

PFEFFER (1888, S. 614) fand für *Chl. pulvisculus* nur eine „fragliche“ Reaktion auf 10% Dextrose (etwa 0,5 mol). FRANK (1904, S. 178) prüfte Rohrzucker und Traubenzucker (10%, 5%, 1%) bei *Chl. tingens* und beobachtete Indifferenz, allerdings nach 30 min Versuchsdauer, was vielleicht nicht ganz zweckmäßig war.

d) *Alkohole* und *Aceton*. MOEWUS gibt für 8 Alkohole an (ohne Konzentrationswerte), sie seien positiv chemotaktisch wirksam (1939, S. 506). Ich habe nur drei dieser Verbindungen geprüft, nämlich Methanol, Äthanol und tert. Amylalkohol.

Am eingehendsten wurde *Äthylalkohol* untersucht. Ausgesprochene Abstoßung trat ein bei Konzentrationen von 10—0,01% (das sind 2—0,002 mol), positive Wirkung ist fraglich. Bei 0,001% ist die repulsive Reaktion fraglich, aber Anziehung fehlt sicher. Die Zellen bleiben während der Zeit der Beobachtung beweglich, selbst aus 10% schwimmen einzelne Zellen wieder heraus; eine Giftwirkung ist also bei diesen Konzentrationen gering. Versuche mit der Methode von MOEWUS mit 1, 0,1 und 0,01% zeigten ähnliches Verhalten der wenigen Zellen, die sich vor der Capillare versammelten.

Methylalkohol wirkte in Konzentrationen von 10—0,001% (3,12—0,0003 mol) mehr oder weniger repulsiv, die Repulsionen sind aber, wie allgemein bei den hier geprüften Alkoholen, auch bei 10 und 1% nicht so exakt, daß sie das Eindringen von Schwärmern in die Capillare völlig verhindern, in der sie entweder rasch unbeweglich werden oder aus der sie wieder entfliehen, wobei sie häufig durch ruckartiges Abschnellen und heftiges Hin- und Herpendeln das Wahrnehmen eines Reizes anzeigen.

Tertiärer Amylalkohol $C_5H_{12}O$ wirkt in 10- und 1%iger Lösung (— 1,1 bis 0,11 mol) stark repulsiv, bei 0,1—0,001% ist die Repulsion schwächer, aber noch sichtbar, Anziehung ist fraglich.

Aus der Reihe der von MOEWUS chemotaktisch unwirksam gefundenen Alkohole wurden Allylalkohol und Glycerin geprüft.

Gegen *Allylkohol* (C_3H_6O) in Lösungen von 1% ($= 0,17$ mol), 0,1—0,001% verhielten sich die Algen ähnlich wie gegenüber den oben genannten Alkoholen; Zeichen einer positiven Wirkung traten nicht auf. — PRINGSHEIM u. MAINX (1926, S. 604) fanden die Substanz bei *Polytoma uella* „stark wirksam“, mit einem Schwellenwert von 10^{-4} mol $= 0,00059\%$.

Glycerin. Konzentrationen von 10% ($= 1$ mol) und 1% wirken deutlich abstoßend. Schwächer sind die Repulsionen durch die 0,1%ige Lösung, und die Reaktion auf 0,01% ist z. T. schon indifferent. Bei direkter Zugabe von 1% Glycerin bleiben die Schwärmer gut beweglich und schrecken im Gegenversuch vor der mit Wasser gefüllten Capillare zunächst zurück, bilden dann aber leichte Ansammlungen am Capillarmund. Auch Versuche nach KUSANO lassen die schwach abstoßende Wirkung des Glycerins erkennen. — PFEFFER (1888, S. 614) und FRANK (1904, S. 178) finden Glycerin bei *Chlamydomonas* ohne Wirkung.

Aceton. Eine anlockende Wirkung der Lösungen von 1—0,001% wurde nicht sichtbar. Deutliche Repulsionen traten auf bei 1 und 0,1%, bei 0,01% waren sie erst an Zellen im Capillarmund zu sehen und bei 0,001% ließ sich auch indifferentes Verhalten der Schwärmer beobachten.

e) *Essigsäure, Natriumacetat und Acetamid*. *Essigsäure*. 1% ($p_H = 3,36$) und 0,1% ($p_H = 3,64$) stoßen sehr stark ab. Noch bei 0,01% ($= 0,0016$ m ($p_H = 3,93$) und 0,001% ($p_H = 4,20$), ist die Abstoßung ausgeprägt, bei 0,0001% ($p_H = 4,50$) ist sie teilweise noch immer zu sehen. Anziehung wurde lediglich bei 0,001% mehrmals beobachtet, Versuche nach KUSANO mit 0,001% ergaben aber eindeutig Vorherrschen der negativen Reaktion.

Natriumacetat. Negative Reaktionen sind gegen 10% ($= 0,73$ mol, $p_H = 7,7$) stark, schwächer gegen 1% ($p_H = 7,0$) und 0,1% und fraglich bei 0,01%. Eindeutig positives Verhalten, wie es nach den Angaben von MOEWUS (1939, S. 506; 1943, S. 420) zu erwarten wäre, konnte nicht beobachtet werden, es blieb unsicher von 1—0,01%.

Acetamid. Lösungen von 10% ($= 1,7$ mol) und 1% ($p_H = 5,0$) wirken abstoßend und nur fraglich anlockend; bei 0,1% reagieren die Zellen neben fraglicher Repulsion vielfach phobisch positiv, und in dieser Konzentration bleiben die Zellen auch einige Tage lang beweglich. Bei 0,01% ($p_H = 4,9$) ist noch Abstoßung zu beobachten; das Verhalten gegen 0,001% ist weitgehend indifferent. Gegenversuche mit Zellen, die sich seit 45 min in 1, 0,1 oder 0,01% befanden, gaben kein klares Resultat.

f) *Anorganische Salze*. 1. Die *Nitrate* von *Ammonium*, *Natrium*, *Kalium* und *Calcium* wirken in Lösungen von 1—0,001% positiv chemotaktisch. Weiträumige, meist starke Ansammlungen, die sich um den Capillarmund konzentrieren und wenig in ihn eindringen, rufen die Lösungen von 1 und 0,1% hervor. Der Radius der Ansammlung am Capillarmund wird merklich kleiner bei 0,01%; die Zellen dringen, besonders bei 0,001%, tiefer in die Capillare ein, eine Repulsion wird hier nicht mehr deutlich. Während NH_4^- , Na- und K- NO_3 in 0,001%iger Lösung neben fraglich positiven noch gut positive Resultate erbrachten, traten bei $Ca(NO_3)_2$ schon indifferente Reaktionen auf.

2. *Kaliumchlorid* bewirkt in 1%iger Lösung kräftige Abstoßung, die schwächer in Verdünnungen bis 0,01% anhält. Eine anziehende Wirkung

Tabelle 3. Zucker

mol	Saccharose	Glucose	Maltose	Lactose	Cellobiose	Raffinose
1	r_{1-2} $a?$	—	—	—	—	—
$1/10$	r_1 $a?$	$a?$ $r?$	a_1 $r?$	a_1 $a?$ $r?$	r_1 $a?$	r_1 $a?$
$1/100$	$r?$ $a?$ 0	$a?$	a_1 $a?$	$a?$	$a?$ 0	$a?$
$1/1000$	0	—	0	0	0	0

Die Ergebnisse von Moewus (nach Tabelle 13, S. 504 und der Bemerkung, daß zunächst alle Zucker in 1%iger Lösung geprüft wurden):

1	+	—	—	—	—	—
$1/10$	0	+	—	—	+	—
1%	—	—	+	+	—	+
$1/100$	0	+	—	—	0	—
$1/1000$	0	+	—	—	0	—
$1/10000$	0	0	—	—	0	—

Tabelle 4. Alkohole

Konzentration in %	Methylalkohol 10 % = 3,12 m	Äthylalkohol 10 % = 2,17 m	Allylalkohol 10 % = 1,72 m	tert. Amylalkohol 10 % = 1,13 m
10	r_{1-2}	r_{1-2}	—	r_{1-2}
1	r_{1-2}	r_{1-2} $a?$	r_{1-2}	r_{1-2}
0,1	r_{1-2}	r_{1-2} $a?$	r_{1-2}	r_{1-2}
0,01	r_1	r_1	r_1	r_1
0,001	$r?$	$r?$	r_1	r_1 $a?$
0,0001	—	0	$r?$ —0	0

Tabelle 5. Weitere organische Substanzen

	1% = n mol	10 %	1 %	0,1 %	0,01 %	0,001 %	0,0001 %
Glycerin	0,11	r_{1-2}	r_{1-2}	r_1	$r?$	0	—
Aceton	0,16	—	r_{1-2}	r_{1-2}	r_1	$r?$ —0	—
Essigsäure	0,16	—	r_2	r_{1-2}	r_{1-2}	r_1 $a?$	$r?$ —0
Na-acetat + 3 H ₂ O	0,07	r_{1-2}	r_1 $a?$	r_1 $a?$	$r?$ $a?$	0	—
Acetamid	0,17	r_{1-2} $a?$	r_1 $a?$	$r?$ $a?$	$r?$	0	—
Glykokoll	0,13	r_{1-2}	r_1 $a?$	$r?$ a_1 — $a?$	$r?$ $a?$	—	—
dl- α -Alanin	0,11	r_{1-2}	r_1 $a?$	$r?$ $a?$	0	—	—
Fleischextrakt	—	—	a_2 r_1	a_{1-2} r_1	a_1 $r?$	a_1 — $a?$	$a?$ —0
Pepton	—	—	r_{1-2} $a?$	r_1 $a?$	a_1 $r?$	$a?$	0

Tabelle 6. Mineralsalze

	1% = n mol	1 %	0,1 %	0,01 %	0,001 %	0,0001 %
NH ₄ NO ₃	0,12	a_2 r_{1-2}	a_2 r_1	a_{1-2} $r?$	a_1 — $a?$	0
KNO ₃	0,12	a_2 r_{1-2}	a_2 r_1	a_{1-2} $r?$	a_1 — $a?$	0
NaNO ₃	0,10	a_2 r_{1-2}	a_2 r_1	a_{1-2} $r?$	a_1 — $a?$	0
Ca(NO ₃) ₂	0,06	a_2 r_{1-2}	a_2 r_1	a_{1-2} $r?$	$a?$ —0	0
KCl	0,13	r_{1-2} $a?$	r_1 $a?$	r_1 a_1 — $a?$	0	—
K ₂ SO ₄	0,05	r_1 $a?$	$r?$ a_1 — $a?$	$r?$ $a?$	0	—
KH ₂ PO ₄	0,07	r_1 $a?$	r_1 $a?$	$r?$ $a?$	0	—
K ₂ HPO ₄	0,06	r_1 $a?$	$r?$ $a?$	$r?$ $a?$	$a?$	0

bleibt fraglich bei 1 und 0,1 %; nur bei 0,01 % tritt eine schwache positive Chemotaxis auf, die aber nicht stärker als die negative wird. — PFEFFER

(1888, S. 614) fand demgegenüber bei *Chl. pulvisculus* KCl unter den anorganischen Substanzen besonders wirksam, aber in hohen Konzentrationen: 9,53 % $a_1 r_1$, 1,906 % $a_2 r_1$, 0,191 % a_1 .

3. *Kaliumsulfat*. Eine schwach abstoßende Wirkung ist bei 1 % zu sehen, eine anlockende ist fraglich. Mit 0,1 % lassen sich vereinzelt schwach positive Reaktionen beobachten. 0,01 % zeigt kein Zunehmen der positiven Reaktion, das Verhalten ist schon recht indifferent.

4. *Kaliumphosphate*. Das primäre und das sekundäre Kaliumphosphat (KH_2PO_4 und K_2HPO_4) verursachen weder ausgeprägte positive noch negative Chemotaxis. Die 1 %ige Lösung wirkt in beiden Fällen schwach abstoßend, bei KH_2PO_4 ebenso die 0,1 %ige. Eine anlockende Wirkung bleibt fraglich auch bei den Konzentrationen von 0,1—0,01 %, für K_2HPO_4 noch bei 0,001 %.

FRANK (1904, S. 176/178) gibt für *Chl. tingens* die hier geprüften Nitrate und stark verdünnte Salpetersäure als sehr gute Chemotaktika an, während er mit einer Reihe von Sulfaten und FeCl_3 keine positive Chemotaxis veranlassen konnte und auch mit KH_2PO_4 ein schwächeres positives Ergebnis bekam.

Chl. tingens steht *Chl. eugametos* also im chemotaktischen Verhalten nahe; sie wurde von FRANK gut in rein anorganischer Nährlösung gezogen. Die durchwegs höheren Werte für die Reizlösungen bei FRANK lassen sich aus der Beurteilungsweise erklären (1904, S. 176), z. B. „Als ‚sehr gut‘ bezeichnete ich die Reizwirkung des betreffenden Körpers, sobald derselbe fähig war, eine Ansammlung fast aller im Tropfen umherschwimmenden Schwärmer in der Capillare selbst und vor derselben zu bewirken . . . ‚Schwach‘ nannte ich endlich eine Ansammlung dann, wenn sich die Individuen nur innerhalb der Capillare und in weniger dichter Masse ansammelten.“

g) *Tabellarische Übersicht*. Die in den Tabellen angewandten Zeichen bedeuten: a_2 gute positive Chemotaxis, a_{1-2} positive Chemotaxis noch eindeutig, a_1 positive Chemotaxis schwach, $a?$ positive Chemotaxis fraglich; r_2 starke Abstoßung, r_{1-2} deutliche Abstoßung, r_1 schwache Abstoßung; Abstoßung erst in der Capillare, $r?$ unsichere Reaktion; ein Teil der Zellen wird abgestoßen.

C. Besprechung

Da die vorliegende Studie von vornherein der Kontrolle und Kritik der Arbeiten von MOEWUS galt, soll hier zusammengefaßt werden, was sich über die von MOEWUS mitgeteilten Befunde sagen läßt.

Man möchte meinen, daß man sich auf Angaben verlassen könne wie die, daß an geißellosen Zellen, wenn sie in Wasser gebracht werden, die Geißeln im Dunkeln ohne einen Reizstoff (Crocin, Zucker) nicht entstehen: aber sie brauchen keinen Reizstoff und kein Licht; daß die Zellen, die im Licht Geißeln gebildet haben, im Dunkeln unbeweglich werden: aber sie bleiben im Dunkeln viele Stunden lang beweglich: daß die Geißeln durch Zufügung der gleichen Menge absoluten Alkohols zu einer wäßrigen Algensuspension fixiert werden: aber die Geißeln fallen bei Behandlung mit Alkohol ab. Wenig wahrscheinlich klingt schon die Behauptung, die Geißeln würden in 3 min fertig ausgebildet: in Wirklichkeit brauchen sie mindestens eine halbe Stunde.

Das allmähliche Hervorwachsen der Cilien von Saprolegnien hat ROTHERT (1892, S. 322) beobachtet; auch sie werden schon als „ganz kurze, gerade, pendelartig hin- und herschwingende Borsten sichtbar“. Dasselbe stellt FRANCÉ (1894,

S. 311) für die Polytomeen fest. Auch für die Bakteriengeißel gilt nach FISCHER (1895, S. 126) „ein zwar schnelles, aber immerhin allmähliches Hervorwachsen“ und nicht „ein augenblickliches Hervortreten protoplasmatischer Fäden“.

Alles was über die Auszählung begeißelter Zellen nach Alkoholfixierung mitgeteilt wird, hat also keinen Boden. Über die Unmöglichkeit, solche Präparate herzustellen, wie MOEWUS sie angefertigt haben will – 0.3 ml Wasser unter einem Deckglas von 50:22 mm Größe *mit Paraffinrand* —, über die Zahlen der Zellen, die MOEWUS durchgesehen haben will – im Hauptversuch 140 Millionen —, und über die darauf verwendete Zeit hat RENNER (1958) sich schon geäußert.

Bei der vagen Art, in der MOEWUS seine Chemotaxisversuche beschreibt, kann man nie sicher beurteilen, ob er wirklich Chemotaxis beobachtet hat. Er gibt nichts an über die Strecke, die die Schwärmer zu durchschwimmen haben, über die Zelldichte bei der zuletzt erreichten gleichmäßigen Verteilung der Algen im Tropfen, noch weniger über das Verhalten der einzelnen Zellen an oder in der Capillare. Er versichert nur: „Man ist nie im Zweifel, ob eine chemotaktische Anlockung vorliegt oder nicht. Bei nicht wirksamen Substanzen ist die Algenverteilung ganz gleichmäßig im Tropfen, bei den wirksamen ist stets eine deutliche Ansammlung zu beobachten“; aber wenn man den Versuch so lange ausdehnt, daß sich die Algen über den ganzen Tropfen verteilen, hat die Zugabe am Tropfenrand keinen Sinn. Schon PFEFFER weist darauf hin, daß Ansammlung von Schwärmern am Capillarenmund noch kein sicheres Kriterium für positive Chemotaxis ist, weil die Zellen einfach durch Minderung der Beweglichkeit in ungünstig wirkendem Medium festgehalten werden können. MOEWUS hat nicht einmal daran gedacht, sich solche Zellen anzusehen, die in einer Mollösung von Saccharose liegen bleiben; sie müssen ja plasmolysiert werden bzw. Cytorhyse erleiden¹.

Von negativer Taxis berichtet MOEWUS überhaupt nicht, er kennt nur positiv wirksame und unwirksame Substanzen, und wenn er gelegentlich von negativer Reaktion spricht, meint er damit indifferentes Verhalten. Bei Essigsäure z. B., die er positiv wirksam gefunden haben will, ist die abstoßende Wirkung auch bei sehr geringer Konzentration ausgesprochen.

Über die angewendeten Konzentrationen gibt MOEWUS (ausgenommen 15 Zucker, Crocin und Crocetinester) nichts an. Das gilt für 22 anorganische Salze, für 27 wirksame und für 23 unwirksame organische Substanzen.

Wenn wir für in eigenen Versuchen geprüfte Stoffe seine Angaben bestätigen können, wie für einige Zucker, können das auf seiner Seite Zufallstreffer sein. Häufiger fehlt die Übereinstimmung. Methyl-,

¹ Herr Prof. Renner hat Herrn Dr. MOEWUS brieflich gefragt, wie die Zellen sich in einer solchen Lösung benehmen, aber keine Antwort darauf bekommen, und die Anfrage hat Moewus auch nicht zu einer Äußerung in seiner Publikation veranlaßt.

Äthyl-, tert. Amylalkohol, weiter Aceton, Essigsäure, Natriumacetat, die er (ob in 1%iger Lösung wie die Zucker?) alle positiv wirksam findet, zeigten ausgesprochene Abstoßung, und unter den anorganischen Salzen, denen er chemotaktische Wirkung samt und sonders abspricht, wirken die Nitrate recht gut positiv.

Alle Chemotaxisversuche will MOEWUS im Dunkeln, und mindestens in gewissen Reihen mit einem höchst umständlichen Verfahren ausgeführt haben an Zellen, die durch Crocin beweglich gemacht worden sind. Die dabei aufgewendeten Arbeit müßte so verschwenderisch gewesen sein wie man es bei ihm gewohnt ist.

Crocin haben wir nicht geprüft. Weil MOEWUS seine Dunkelzellen erst durch Crocin beweglich macht, kann er nicht die absolute Reizschwelle prüfen, sondern nur die Unterschiedsschwelle. Diese soll für verschiedene Stämme von *Chlamydomonas* außerordentlich hoch sein, nämlich 1:10000, 1:100000 und 1:1000000. Niemand, der die Literatur über Reizschwellen studiert und sich die maßgebenden Vorgänge vergegenwärtigt, wird das glauben. Der weitaus höchste bekannte Wert, der bei der Chemotaxis von Farnspermatozoiden gegen Äpfelsäure gefunden wurde, beträgt 1:30.

Umgekehrt soll die absolute Reizschwelle für die Dimethylester des Crocins unerhört niedrig liegen, nämlich bei 10^{-14} mol, und das gleichermaßen bei 6 verschiedenen Stämmen, also um 5 Zehnerpotenzen niedriger als PRINGSHEIM und MAINX (1926, S. 605: 10^{-8} — 10^{-9} mol) bei *Polytoma uvella* für Triolein gefunden haben.

Sonst hat MOEWUS (1939, S. 504) Reizschwellen nur bei Zuckern aufgesucht, und zwar findet er bei drei verschiedenen Arten von *Chlamydomonas* jeweils den Zucker am stärksten chemotaktisch wirksam, der in 1%iger Lösung in der kürzesten Zeit (in 10—13 min) die geißellosen Zellen beweglich macht (S. 487). Bei *Chl. eugametos* ist das Gentiobiose, bei *Chl. dresdensis* Cellobiose, bei *Chl. Braunii* Cellotriose, und die Schwelle liegt jeweils bei 10^{-4} molar. Die d-Glucose ruft bei allen 3 Arten Geißelbildung erst in 21—25 min hervor, und hier liegt die Schwelle übereinstimmend bei 10^{-3} mol. Saccharose soll die Geißeln erst in 50—60 min auswachsen lassen, und die Schwelle wird hier zu 1 mol angegeben, ohne daß der Autor die stark plasmolysierende Wirkung dieser Konzentration beachtet. Von all dem ist nichts zu glauben.

In den eigenen Versuchen habe ich, wie PRINGSHEIM u. MAINX für *Polytoma uvella* getan haben, immer versucht, die Schwellenkonzentration bei Abstufung um Zehnerpotenzen zu bestimmen, aber die Grenzen waren meist unsicher. Die niedrigste Schwelle ist für NH_4NO_3 mit einiger Sicherheit bei 0,00001% oder 10^{-6} mol gefunden worden. Gegenüber der sehr eingehenden systematischen Untersuchung der beiden Autoren an *Polytoma* habe ich an meinem Objekt nur spärliche Stichproben gemacht. Aber diese lassen doch erkennen, daß die beiden

Organismen, als Vertreter sehr verschiedener Ernährungstypen, sich in ihrem Reizverhalten unterscheiden. *Polytoma* reagiert, teilweise mit hoher Empfindlichkeit, positiv gegen Essigsäure, Na-Acetat, Äthyl-, Amyl- und Allylalkohol, die alle auf *Chlamydomonas* im wesentlichen abstoßend wirken. Und *Polytoma* ist indifferent gegen Zucker, Fleisch-extrakt, Mineralsalze (PRINGSHEIM 1921, S. 107), die *Chlamydomonas* anlocken. — Von Abstoßungs- neben Anlockungserscheinungen ist bei PRINGSHEIM (1921, S. 209) kurz die Rede. PRINGSHEIM u. MAINX „fanden keine negative Reaktion auf starke Lösungen“ (S. 616).

Cis- und trans-Dimethylester des Crocetins sollen gleiche chemotaktische Wirkung auf Crocin-Dunkelzellen haben. Es wurden aber, wenigstens auf dem Papier, auch noch Mischungen der beiden Ester geprüft, und zwar in 21 Stufen von 100 cis:0 trans, 95 cis:5 trans und so fort bis zu 0 cis:100 trans, und das an 5 verschiedenen Stämmen, mit immer gleichem Ergebnis, und in 45—60 Einzelversuchen bei jeder Stufe (S. 507, Tabelle 15 und 16). Das gibt $21 \times 5 \times 50 = 5250$ Capillarenversuche im Dunkeln. Selten wird jemand von so überflüssigen Experimenten erzählt haben.

Über das erstaunlichste, in der Tabelle 20 niedergelegte Ergebnis von MOEWUS, die unterschiedliche chemotaktische Wirkung verschiedener Mischungen von cis- und trans-Ester auf 8 verschiedene Sorten reaktionsfähiger Gameten, hat RENNER sich schon geäußert. Hier soll nur noch „Die Geschwindigkeit der Reaktion“ (S. 514ff.) erörtert werden. Dieses Kapitel bringt die Erklärung für die Einführung einer neuen, umständlichen Methode anstelle der bewährten alten. Wenn MOEWUS zwischen die Schwärmer und das Capillarenende einen mehrere Millimeter langen Weg einschaltet, so tut er das, um die Vorstellung zu erwecken, er sei imstande Reaktionsgeschwindigkeiten zu bestimmen, wozu die Pfeffersche Methode nicht geeignet ist. Daß er sein neues Verfahren allgemein angewendet haben will, auch wo es nicht um Geschwindigkeiten geht, ist schwer zu verstehen.

Die Reaktion muß wieder im Dunkeln erfolgen, das Ergebnis wird in dem Augenblick festgestellt, in dem das Präparat in rotes Licht kommt (S. 499). Als maßgebende Zeitspanne wird die betrachtet, in der 18—22 Zellen (genau so, nicht weniger und nicht mehr) positiv reagiert haben (S. 514). Je nach dem Mischungsverhältnis der beiden Ester, bei „cis/trans-Unterschieden“ von 90:90 bis 20:20 Teilen, sind im Mittel aller 8 Gametensorten (Tabelle 24 und 25) 30, 35, 40, 50, 68, 96, 167, 233 sec nötig; „je geringer der cis/trans-Unterschied, desto länger dauert es, bis 18—22 Zellen vor der Kapillarenöffnung angesammelt sind“. Bei den raschesten Reaktionen erstreckt sich die Streuung von 25—35 sec. Die Zahl der geglückten Versuche ist 629, die Gesamtzahl mit Einschluß der nicht verwertbaren und der ergebnislosen Versuche ist $64 \times 20 = 1280$.

Wohl ein halbdutzendmal (S. 514, 515, 516) heißt es: Ansammlung vor der Capillarenöffnung; von einem Eindringen der Schwärmer in die Capillare, wie es bei guter Reaktion immer eintritt, ist hier nie die Rede, sondern nur bei der allgemeinen Darstellung der Methode (S. 499). Gut reizbare Schwärmer sind aber dauernd in Bewegung, und in einem wimmelnden Häufchen von 18 oder 20 oder 25 Zellen die Zahl sicher festzustellen ist unmöglich, auch wenn man sich Zeit läßt. Die Zählung müßte jedoch im Laufe weniger Sekunden geschehen, weil MOEWUS zwischen 25, 30 und 35 sec unterscheidet. Schon wenn man Gruppen von 17—23 Linsensamen in einem Porzellanteller vor sich liegen hat, ist es nicht leicht, sie ohne Verwendung des Fingers rasch auszuzählen.

Ob die kürzeste Frist von 25—30 sec ausreicht, um die Schwärmer vom Tropfenrand zu der Capillare kommen zu lassen, ist nicht sicher zu entscheiden, weil MOEWUS die Entfernung nicht angibt. Nach unserer Beobachtung der phototaktischen Bewegung konnten die Algen in 30 sec nur 3 mm weit schwimmen. Die Mulde hohlgeschliffener Objektträger pflegt etwa 15 mm Durchmesser zu haben, eine Wegstrecke von 10 mm wäre also wohl möglich, und diese können die Algen in 100 sec zurücklegen. Warum es aber bei den zwar schwach, doch noch immer positiv wirkenden Konzentrationen 4 min dauern soll, bis aus dem Wölkchen von Zellen an der Capillarenmündung etwa 20 von der Capillare Notiz nehmen, ist nicht einzusehen; davon ganz abgesehen, daß in dieser Zeit schon eine beträchtliche Menge des Chemotaktikums herausdiffundiert sein kann. Der ganze Versuch, der, unbewußt oder nicht, wohl mit einer beträchtlichen Reichweite der chemotaktischen Wirkung rechnet, ist schlecht erfunden.

Auf eine weitere Schwäche der Moewusschen Protokolle ist noch hinzuweisen. In der Tabelle 20 sind Chemotaxisversuche mit 121 Stufen von cis/trans-Mischungen dargestellt, ohne daß ein Wort über verschieden rasches Reagieren bei verschiedenen Unterschieden gesagt wurde. Unterschiede zwischen $\frac{1}{2}$ min und 4 min hätten doch schon hier auffallen müssen.

Zusammenfassung

Geißellose Zellen von *Chlamydomonas eugametos* MOEWUS (*Chl. Moewusii* GERLOFF) lassen sich nach der Vorschrift von MOEWUS mit Sicherheit gewinnen durch lockeres Aussäen von Schwärmern auf 5%igen Agar. Der Verlust der Geißeln scheint durch Einziehung, nicht durch Abwerfen zustande zu kommen. Dagegen findet Abwerfen der Geißeln statt bei den verschiedensten Schädigungen, z. B. in hohen Temperaturen, bei zu hohen oder zu niederen p_H -Werten, in hohen Konzentrationen von Äthylalkohol.

Zellen, die unter ungünstigen Bedingungen die Geißeln abgeworfen haben, können sie, in günstigeres Milieu zurückversetzt, ein zweites und unter Umständen ein drittes Mal bilden.

Geißellose Agarzellen bilden bei Zugabe von Wasser in kurzer Zeit bewegungsfähige Geißeln, im Dunkeln wie im Licht, und im Licht entstandene Geißeln bleiben im Dunkeln viele Stunden lang beweglich.

Phototaktisch reagierende Schwärmer legen bei Zimmertemperatur in 1 sec etwa das 10fache ihrer Körperlänge zurück, die etwa 10μ beträgt: die Geißeln sind durchschnittlich $1\frac{1}{3}$ mal so lang wie der Körper.

Bei Temperaturen über 37° werden keine Geißeln mehr gebildet, und ausgebildete Geißeln werden geschädigt; 40° werden nur für Minuten vertragen.

Die Geißelbildung wird gehemmt und fertige Geißeln werden geschädigt bei p_H -Werten unter 5,7 und über 9,8.

Die Geschwindigkeit des Geißelwachstums, beobachtet bis zur Erreichung der Körperlänge, nimmt mit der Zeit etwas zu. Also wird die wachsende Zone mit der Zeit wohl etwas länger. Gemessen wurde die Geißellänge an mit Osmiumsäuredämpfen fixierten Zellen.

Die Wachstumsgeschwindigkeit ist in der Weise von der Temperatur abhängig, daß die Erzeugung körperlanger Geißeln bei $5^{\circ}\text{C} \sim 5$ Std, bei $20^{\circ} \sim \frac{3}{4}$ Std, bei $30^{\circ} \sim \frac{1}{2}$ Std, bei $35^{\circ} \sim \frac{3}{4}$ Std erfordert.

Die chemotaktische Empfindlichkeit ist nicht sehr ausgeprägt, und weil fast immer Erscheinungen der Anlockung und der Abstoßung nebeneinander herzu laufen scheinen, ist die Beurteilung oft schwer. Immerhin sind gute positive Reaktionen beobachtet worden vor allem gegen Fleischextrakt und gegen Nitrate. Schwach und z. T. fraglich ist die anlockende Wirkung von Kaliumchlorid, Kaliumsulfat, primärem und sekundärem Kaliumphosphat, einigen Zuckern (Maltose, Lactose, Cellobiose, Glucose), Glykokoll und dl- α -Alanin. Ziemlich indifferent verhalten sich die Schwärmer gegen mäßige Konzentrationen von Glycerin.

Ausgesprochen abstoßend wirken Essigsäure, Na-Acetat, Aceton, Methyl-, Äthyl-, tert. Amyl- und Allylalkohol.

Die von MOEWUS für die Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeit erdachte aber allgemein verwendete Methode der Prüfung auf Chemotaxis ist unzweckmäßig.

Seine Angaben über die Wirkung der auch von uns geprüften Stoffe stehen größtenteils im Widerspruch zu unseren eigenen Erfahrungen.

Was MOEWUS über die chemotaktische Wirkung des Crocins und der beiden Crocetindimethylester berichtet, wurde nicht experimentell nachgeprüft, sondern nur kritisch betrachtet.

Literatur

- BOLTE, E.: Über die Wirkung von Licht und Kohlensäure auf die Beweglichkeit grüner und farbloser Schwärmer. Jb. wiss. Bot. **59**, 287--342 (1920). — CZURDA, V.: Über die Variabilität von *Chlamydomonas eugametos* MOEWUS. Beih. bot. Cbl. A **53**, 133—157 (1935). — DELORY, G. E., and E. J. KING: Zit. in Methods in Enzymology vol. I, edit. by S. P. COLOWICK and N. O. KAPLAN.

New York. 1955. — FISCHER, A.: Über die Geißeln einiger Flagellaten. Jb. wiss. Bot. **26**, 187—235 (1894). — Untersuchungen über Bakterien. Jb. wiss. Bot. **27**, 1—163 (1895). — FÖRSTER, H., u. L. WIESE: Untersuchungen zur Kopulationsfähigkeit von *Chlamydomonas eugametos*. Z. Naturforsch. **9b**, 470—471 (1954). — FRANCÉ, R.: Die Polytoomeen, eine morphologisch-entwicklungsgeschichtliche Studie. Jb. wiss. Bot. **26**, 295—378 (1894). — FRANK, TH.: Kultur und chemische Reizerscheinungen der *Chlamydomonas tingens*. Bot. Ztg **62**, 153—187 (1904). — GERLOFF, J.: Beiträge zur Kenntnis der Variabilität und Systematik der Gattung *Chlamydomonas*. Arch. Protistenk. **94**, 311—502 (1940). — KUSANO, S.: Studies on the chemotactic and other related reactions of the swarmspores of *Myxomycetes*. J. Coll. Agric. Imp. Univ. Tokyo **2**, 1—103 (1909). — LEWIN, R. A.: Studies on the flagella of Algae. II. Formation of flagella by *Chlamydomonas* in light and darkness. Ann. Acad. Sci. New York **56**, 1091—1093 (1943). — MASSART, H.: Sensibilité et adaptation des organismes à la concentration des solutions salines. Arch. Biol. (Liège) **9** (1889). Zit. nach ROTHERT 1901, S. 409. — METZNER, P.: Studien über die Bewegungsmechanik der Spermatozoiden. Beitr. allg. Bot. **2**, 435—499 (1923). — MOEWUS, F.: Neue *Chlamydomonaden*. Arch. Protistenk. **75**, 284—296 (1931). — Untersuchungen über die Variabilität von *Chlamydomonas*. Arch. Protistenk. **80**, 128—171 (1933a). — Untersuchungen über die Sexualität und Entwicklung von Chlorophyceen. Arch. Protistenk. **80**, 469—526 (1933b). — Methodik und Nachträge zu den Kreuzungen zwischen *Polytoma*-Arten und zwischen *Protosiphon*-Rassen. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **73**, 63—107 (1937). — Carotinoide als Sexualstoffe von Algen. Jb. wiss. Bot. **86**, 753—783 (1938). — Über die Chemotaxis von Algengameten. Arch. Protistenk. **92**, 485—526 (1939). — Geißelbildung und Beweglichkeit bei *Chlamydomonas*. Naturwiss. **31**, 420 (1943). — PFEFFER, W.: Locomotorische Richtungsbewegungen durch chemische Reize. Unters. bot. Inst. Tübingen **1**, 363—482 (1884). — Über chemotaktische Bewegungen von Bakterien, Flagellaten und Volvocineen. Unters. bot. Inst. Tübingen **2**, 582—661 (1888). — PRINGSHEIM, E. G.: Die Reizbewegungen der Pflanzen. Berlin 1912. — Das Zustandekommen der taktischen Reaktionen. Biol. Zbl. **32**, 337—365 (1913). — Zur Physiologie saprophytischer Flagellaten. Beitr. allg. Bot. **2**, 88—137 (1921). — Methods for the cultivation of Algae. Manual of Phycology, Waltham, USA. 1951. — PRINGSHEIM, E. G., u. F. MAINX: Untersuchungen an *Polytoma uvella* EHRENBURG, insbesondere über Beziehungen zwischen chemotaktischer Reizwirkung und chemischer Konstitution. Planta (Berl.) **1**, 583—623 (1926). — RENNER, O.: Auch etwas über F. Moewus, Forsythia und *Chlamydomonas*. Z. Naturforsch. **13b**, 399—403 (1958). — ROMEIS, B.: Mikroskopische Technik, 15. Aufl. München 1948. — ROTHERT, W.: Die Entwicklung der Sporangien bei den Saprolegnieen. Cohns Beitr. Biol. Pflanz. **5**, 291—349 (1892). — STRUGGER, S.: Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über die Speicherung und Wanderung des Fluoreszeinkaliums in pflanzlichen Geweben. Flora (Jena) **132**, 253—304 (1937/38). — ÜLEHLA, V.: Ultramikroskopische Studien über Geißelbewegung. Biol. Zbl. **31**, 645—654, 657—676, 689—705, 721—731 (1911).

DR. MALVINE HAGEN-SEYFFERTH,
Heiligenberg i. Baden, Institut

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg

Lebenslauf

Ich, MALVINE HAGEN, geb. SEYFFERTH, wurde am 16. Dezember 1927 in Dinkelsbühl als Tochter des damaligen Bezirksamtmanns FRANZ SEYFFERTH und seiner Ehefrau ELISABETH geb. PREU geboren.

Nach der Volksschule in Hof/Saale besuchte ich von 1938 bis 1943 die Oberschule für Mädchen in Deggendorf, darauf von 1943 bis 1944 die dortige Oberschule für Jungen. Von dort trat ich 1944 an die staatliche Aufbauschule in Erding über, im März 1947 erhielt ich das Reifezeugnis.

Mit dem Studium von Biologie und Chemie begann ich im April 1948 an der philosoph.-theolog. Hochschule in Passau. Von dort ging ich nach zwei Semestern im April 1949 an die Universität München, wo ich bis März 1953 Biologie, Chemie und Geographie studierte. Mit der Ausarbeitung der vorliegenden Dissertation begann ich im Wintersemester 1952/53. Seit Dezember 1954 bin ich verheiratet mit Dr. med. et rer. nat. ULRICH HAGEN. Wir haben seit Mai 1956 ein Kind.

